Government of Canada
Canadian Forestry Service

Gouvernement du Canada
Service canadien des forêts

A comparison of the effects of *Nosema fumiferanae* and a *Nosema* sp. (microsporida) on *Choristoneura fumiferana* (Clem.) and *Choristoneura pinus pinus* Free

Wilson, G.G.

Information Report FPM-X-77
Forest Pest Management Institute

A COMPARISON OF THE EFFECTS OF *NOSEMA FUNIFERANAE* AND A *NOSEMA* SP. (MICROSPORIDA) ON *CHORISTONEURA FUNIFERANA* (CLEM.) AND *CHORISTONEURA PINUS PINUS* FREE.

INFORMATION REPORT FPM-X-77

G.G. WILSON

FOREST PEST MANAGEMENT INSTITUTE
GOVERNMENT OF CANADA
CANADIAN FORESTRY SERVICE
1219 QUEEN STREET EAST
P.O. BOX 490
SAULT STE. MARIE, ONTARIO
P6A 5M7

1986

© Minister of Supply and Services Canada, 1986

Catalogue No: Fo46-16/77E

ISSN: 0704-772X

ISBN: 0-662-15093-7

Additional copies of this publication are available free of charge from:

Information Services
Forest Pest Management Institute
Canadian Forestry Service
Agriculture Canada
P.O. Box 490
Sault Ste. Marie, Ontario
Canada, P6A 5M7

Cette publication est aussi disponible en français sous le titre *Comparaison des effets de Nosema fumiferanae et d'une autre microsporidie du genre Nosema sur Choristoneura fumiferana (Clem.) et Choristoneura pinus pinus free.*

93-02780/

Wilson, G.G. 1986. A comparison of the effects of *Nosema fumiferanae* and a *Nosema* sp. (microsporida) on *Choristoneura fumiferana* (Clem.) and *Choristoneura pinus pinus* Free. Can. For. Serv., For. Pest Manage. Inst. Inf. Rep. FPM-X-77. 10 p.

ABSTRACT

This report details the effects two microsporidia, *Nosema fumiferanae* and a *Nosema* sp. have when fed to 4th- and 5th-instar larvae of *Choristoneura fumiferana* and *Choristoneura pinus pinus*. Both microsporidia caused increased insect mortality and decreases in pupal weight and adult longevity. In the majority of cases *N. fumiferanae* caused the greatest detrimental effects on both species of pest insects.

RÉSUMÉ

Sont présentés de façon détaillée les effets de deux microsporidies, *Nosema fumiferanae* et *Nosema* sp., lorsqu'elles sont consommées par des larves au 4^{e} et au 5^{e} stade de *Choristoneura fumiferana* et de *C. pinus pinus*. On a observé que les deux microsporidies causaient une augmentation de la mortalité des insectes ainsi qu'une diminution du poids des chrysalides et de la longévité des adultes. Dans la majorité des cas, *N. fumiferanae* a causé les effets les plus dommageables chez les deux espèces d'insectes.

INTRODUCTION

Microsporidian parasites have been isolated from both the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), and the jack pine budworm, *Choristoneura pinus pinus* Free. Both microsporidia were first reported by Thomson (1955, 1959), and are now in the genus *Nosema* sp. The species infecting the spruce budworm is *Nosema fumiferanae* and although the microsporidia occurring in the jack pine budworm is very similar, it has not been assigned to a particular species. Cross-infectivity tests have demonstrated that both forest pest insects are susceptible to either microsporidia (Wilson, unpublished data). Experimental studies (Wilson 1981) have demonstrated that *N. fumiferanae* has definite detrimental effects on its host, the spruce budworm. Because of the serious and dramatic increase in infestations of the jack pine budworm in Ontario, studies were undertaken to compare the effects of these two microsporidian parasites on the spruce and jack pine budworms.

Some difficulty was encountered in rearing the jack pine budworm on the artificial diet, resulting in relatively high mortality in the control insects. Because of this problem and the general nature of the comparisons, detailed statistical analysis was not performed. However mortality values were adjusted using Abbott's formula (Finney 1952).

The Parasites, *Nosema fumiferanae* and *Nosema* sp., from the Jack Pine Budworm

Thomson (1955, 1959) described microsporidia isolated from the spruce and jack pine budworms. The microsporidian parasite of the spruce budworm was originally designated *Perezia fumiferanae*, but is now considered *Nosema fumiferanae*. The microsporidium isolated from the jack pine budworm was similar to *N. fumiferanae* and Thomson suggested that the differences were not great enough to consider it a distinct species. Both microsporidia have spores measuring 2 x 3-5 μ with polar filaments of 60 to 100 μ in length. Most tissues are infected, with the primary site being mid-gut cells.

The Hosts, *Choristoneura fumiferana* and *Choristoneura pinus pinus*

The spruce budworm is the most destructive defoliating forest insect native to North America. In 1985, 12.3 million hectares of Ontario's spruce and fir forests suffered moderate-to-severe defoliation. Infestations of the jack pine budworm in jack pine stands have increased dramatically in Ontario. In 1985 the overall area of moderate-to-severe defoliation peaked at 3.66 million ha. This was the largest infestation ever recorded in Ontario. (Forestry Newsletter, summer 1986, Great Lakes Forestry Centre). The jack pine and spruce budworm are closely related and were considered the same species until 1953 (Martineau, 1984). It is possible that as the respective hosts become isolated that variations will also occur in a once common microsporidian parasite.

MATERIALS AND METHODS

Microsporidian spores used in this study were harvested from their respective hosts, *N. fumiferanae* (Nf) from the spruce budworm and *Nosema* sp. (Cpm) from the jack pine budworm. Both species were reared in the laboratory. Spores were purified and stored at 4°C for up to four weeks before use. Spore suspensions were prepared in water to give concentrations of 10^6, 10^7, and 10^8 spores/mL. These suspensions were applied to the surface (4.7 cm^2) of a synthetic diet (McMorran, 1965) dispensed in plastic cups (Grisdale, 1970) at a rate of 200 µL/cup, resulting in a dose of 2×10^5, 2×10^6 and 2×10^7 spores/cup. Diet for control insects was treated with distilled water. Insects used in all tests were late 4th- or early 5th-instar larvae, 12-14 days out of the hibernacula.

Ten cups were used for each dose; eight larvae were placed in each cup. Larvae were allowed to feed freely on the treated diet for seven days and were then placed on fresh untreated diet. The experiments were repeated twice. Tests were performed under a regime of 16 h light and 8 h dark photo-period, 23±1°C and RH of 60-80%. The cups were placed in an

inverted position and examined every other day to determine larval mortality and to ensure that the diet was in a palatable state. With the onset of pupation the tests were checked daily and the resulting pupae were sexed and weighed within 24 h. Pupae were set up individually in glass vials and emergence and deaths of adults were recorded.

RESULTS

Mortality: As noted in the introduction jack pine budworm did not rear as well as spruce budworm on the artificial diet. Table 1 indicates the control mortality (0 spore dose) for both spruce and jack pine budworm for the different treatments, Nf and Cpm. The total spruce budworm control mortality was 21 out of a total of 238 insects (8.8%). This compares to 46 of 162 insects (28.3%) for jack pine budworm. The effects of the microsporidia have to be weighed against this background.

Mortality in both spruce budworm and jack pine budworm was greatest when larvae were treated with a dose of 2×10^7 spores of either Nf or Cpm. Slightly higher mortality was caused by Nf in both budworm species (Table 1). Total mortality (larval and pupal) for spruce budworm larvae treated with 2×10^7 Nf spores was 59.8%, the same dose of Cpm caused 42.5% mortality. The mortality for treated jack pine budworm larvae was higher than spruce budworm at all dosages for both microsporidia. A spore dose of 2×10^5 caused mortality in the jack pine budworm similar to a dose of 2×10^7 spores for the spruce budworm. A dose of 2×10^7 spores of Nf and Cpm caused total jack pine budworm mortality of 84.9 and 70.8% respectively (Table 1). In both cases Nf caused slightly higher mortality in the two species of insects.

Pupal Weights: Both microsporidia caused a substantial reduction in spruce and jack pine budworm female pupal weights (Fig. 1). The greatest reduction for

Table 1. The effects of various dosages of *Nosema fumiferanae* (Nf) and jack pine budworm microsporidia (Cpm) on mortality of spruce budworm and jack pine budworm when treated as mixed 4th- and 5th-instar larvae

Dose: spores/ diet surface	Percent larval mortality		Percent pupal mortality		Percent total mortality*	
	Nf	Cpm	Nf	Cpm	Nf	Cpm
Host - Spruce budworm						
0	0	5.3	5.2	6.0	5.2 (76)	10.7 (162)
2×10^5	15.2	6.4	16.4	7.9	25.2 (151)	3.2 (154)
2×10^6	19.5	16.4	10.1	16.4	24.3 (157)	19.8 (158)
2×10^7	45.0	34.8	30.7	23.4	59.8 (142)	42.5 (158)
Host - Jack pine budworm						
0	16.4	25.2	9.0	9.6	23.8 (67)	31.5 (95)
2×10^5	39.1	39.8	27.3	33.7	41.8 (156)	41.7 (143)
2×10^6	52.7	63.2	45.7	48.9	66.2 (148)	63.6 (128)
2×10^7	80.5	64.1	41.3	44.2	84.9 (149)	70.8 (121)

* Total mortality was adjusted using Abbott's formula
( ) Parentheses indicate number of individuals in calculations

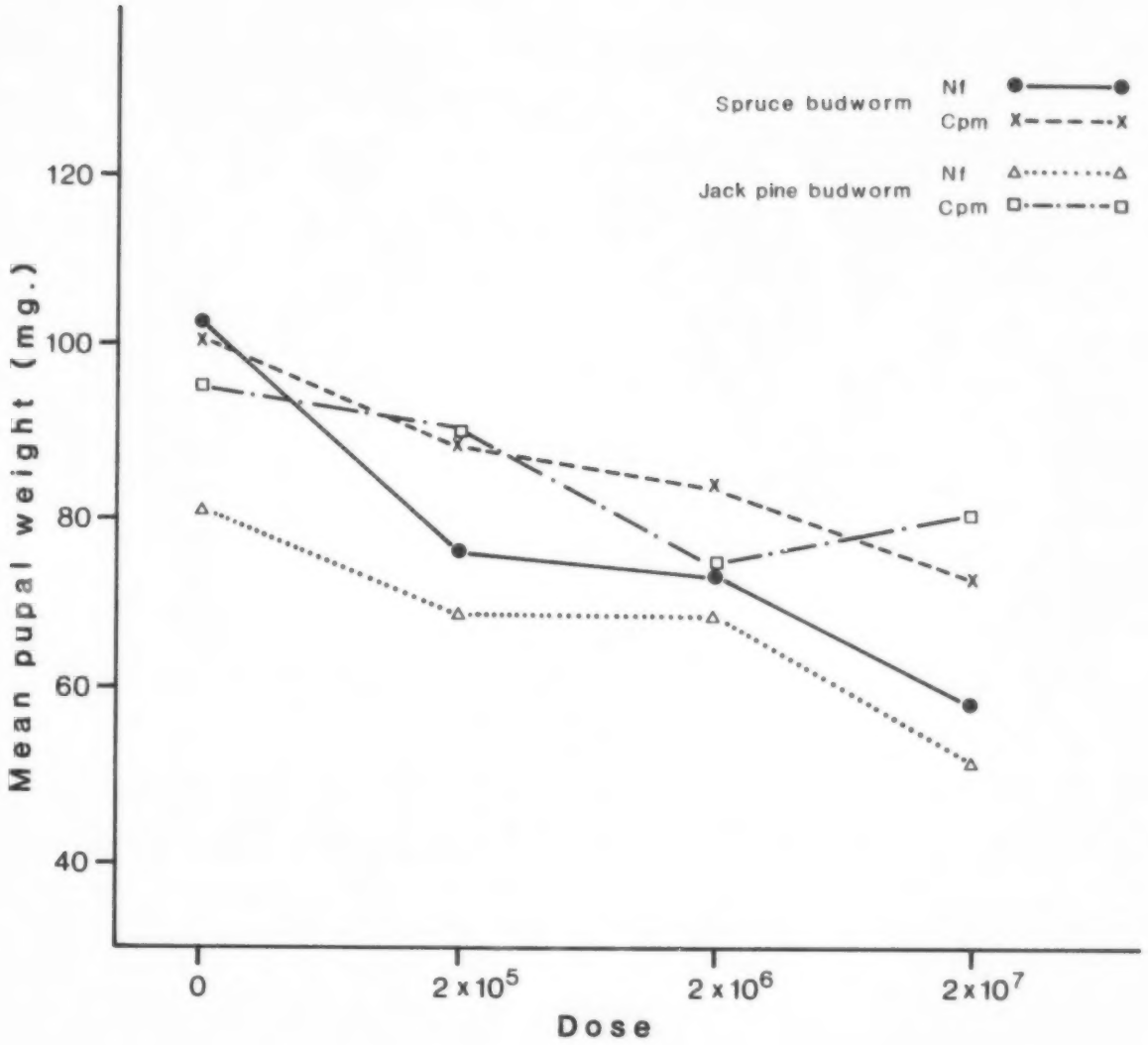

Figure 1. The effects of various dosages of *Nosema fumiferanae* (Nf) and jack pine budworm microsporidia (Cpm) on female pupal weights of spruce budworm and jack pine budworm when treated as mixed 4th- and 5th-instar larvae.

both species of insects was caused by Nf. In general there was only a slight decrease in weights caused by 5 x 10^5 and 5 x 10^6 spores, as compared to controls, with the greatest reduction in pupal weights for those larvae treated with 2 x 10^7 spores. Treatment of jack pine budworm larvae with 2 x 10^7 spores of Nf and Cpm resulted in decreased female pupal weight of 29 and 15 mg, respectively. The reductions were 44 mg (Nf) and 27 mg (Cpm) for spruce budworm treated with the same dose. Similar trends were also noted for male pupal weights when larvae were treated with the microsporidia (Fig. 2). As with the female pupae, Nf infection caused the greatest decline in weight.

Adult longevity: The reduction in adult longevity was similar for each host insect, with even the lowest dose tested, 2 x 10^5 spores, resulting in a decrease in adult life (Table 2). The greatest decrease occurred in adults when larvae were treated with 2 x 10^7 spores/diet surface. The longevity of female spruce budworm treated with 2 x 10^7 Nf and Cpm spores, as compared to the control, was 3.8 and 4.8 days respectively. Similarly, the reduction for female jack pine budworm was 5.7 and 5.9 days. It is apparent that both microsporidia had the greatest effect on the longevity of female jack pine budworm. The decrease in male longevity was similar for both hosts, with Nf and Cpm causing earlier death by 2 to 3 and 1.5 days respectively, when compared to the controls.

DISCUSSION

It is apparent from these tests, that both microsporidia, *N. fumiferanae* and *Nosema* sp., have serious detrimental effects on their hosts. There is an increase in mortality and a decrease in pupal weight and adult longevity. The detrimental effects of *N. fumiferanae* on the spruce budworm have been well documented (Thomson 1958, Wilson 1977, 1983). Wilson (1976) conducted tests to determine the best dose for mass production of Nf spores and reported that a spore concentration of 2 x 10^7 applied to diet surface and fed to 4th-instar spruce budworm

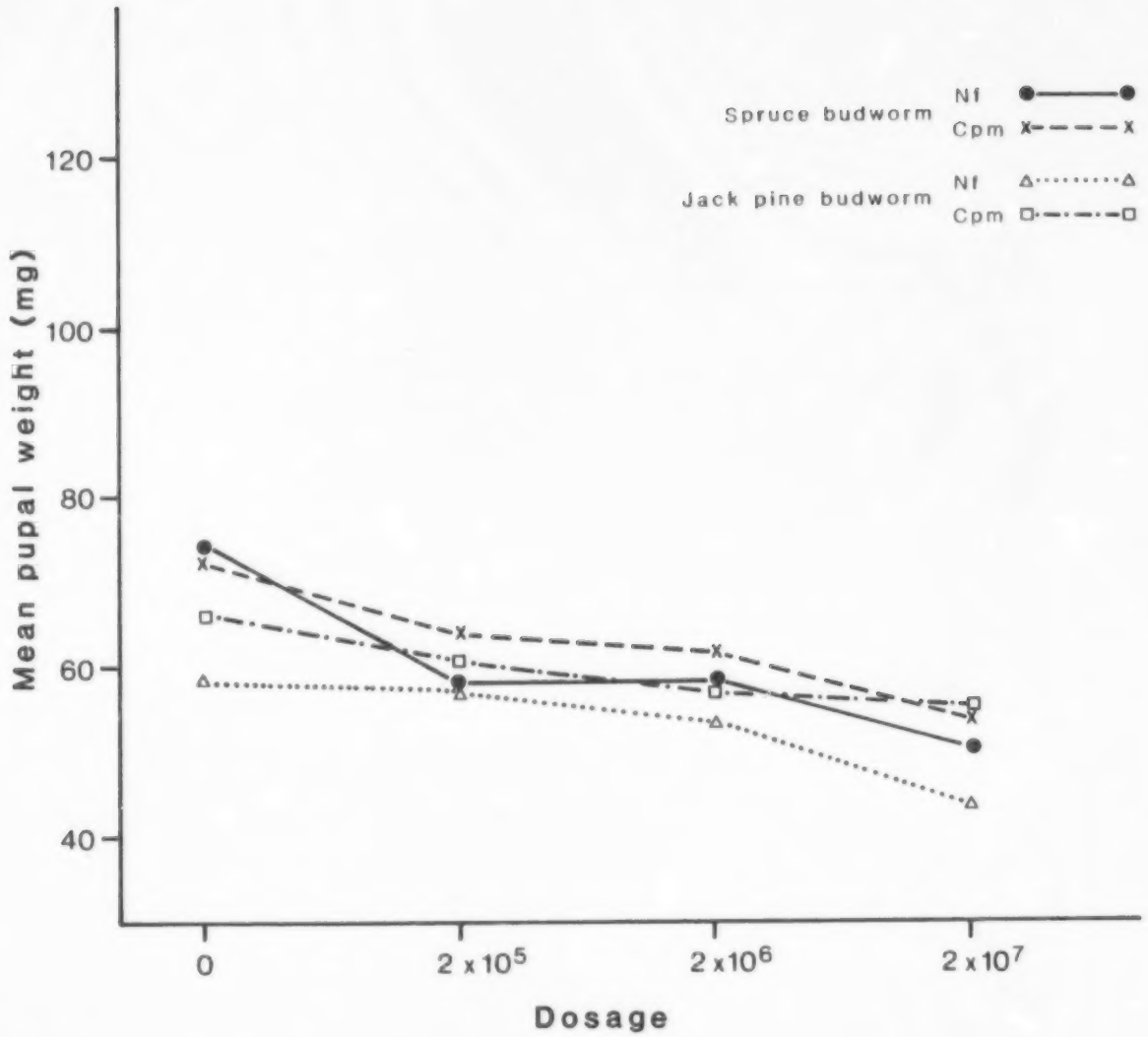

Figure 2. The effects of various dosages of *Nosema fumiferanae* (Nf) and jack pine budworm microsporidia (Cpm) on male pupal weights of spruce budworm and jack pine budworm when treated as mixed 4th and 5th instar larvae.

resulted in 38% larval mortality. Similar results were obtained in the present study, with 2 x 10^7 spores of Nf resulting in 45% spruce budworm larval mortality.

Table 2. The effects of various dosages of *Nosema fumiferanae* (Nf) and jack pine budworm microsporidia (Cpm) on adult longevity of spruce budworm and jack pine budworm when treated as mixed 4th and 5th-instar larvae

Dose: spores/ diet surface	Spruce budworm x days as adults				Jack pine budworm x days as adults			
	Nf		Cpm		Nf		Cpm	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
0	7.9	11.9	8.1	14.1	8.5	10.8	9.2	12.5
2 x 10^5	6.8	9.1	7.4	11.1	7.3	8.6	6.9	10.8
2 x 10^6	6.8	8.8	8.0	10.2	7.1	7.3	6.9	8.6
2 x 10^7	5.4	8.1	6.4	9.3	5.1	5.1	7.6	6.6

Longevity and pupal weights are important considerations in reproductive potential. A reduction in both suggests a depletion of nutritional reserves and a reduced ability to assimilate food efficiently (Nolan and Clovis 1985), resulting in lower reproductive potential. Decreased longevity also shortens the time adults have to mate and lay a full complement of eggs. These effects of microsporidia on pupal weight and adult longevity have been reported for other insects. Gaugler and Brooks (1975) fed 3-day-old larvae of *Heliothis zea* on diet treated with 1.3 x 10^6 spores of *Nosema heliothidis*. Longevity of adults from these larvae was shortened by about 4 days. Similarly, longevity of male and female moths of *Ostrina nubilalis* naturally infected with *Nosema pyrausta*, which exceeded a concentration of 10^6 spores, lived an average of 2.0 and 4.2 fewer days respectively than did moths having no infection (Windels et al. 1976). Thomson (1958) studied a population of spruce budworm

naturally infected with *N. fumiferanae* and reported decreases in longevity of infected adult males and females of 2.4 and 7.1 days respectively, and a reduction in female pupal weights by 23 mg.

This is the first time microsporidia have been tested against the jack pine budworm. This study indicates that results similar to those found with spruce budworm can be expected for jack pine budworm treated with microsporidia. In fact, the data indicate that the effects may be more pronounced in the jack pine budworm. It is also interesting that *N. fumiferanae* seems to cause greater detrimental effects on both the spruce budworm and jack pine budworm than does the microsporidia isolated from the jack pine budworm. However, this does not necessarily indicate a different species of microsporidia. In fact the microsporidia from the jack pine budworm is probably a strain of *N. fumiferanae*. Any comprehensive population dynamics study of the jack pine budworm will have to take into consideration the role of microsporidia in the regulation of this forest pest.

ACKNOWLEDGMENTS

Grateful acknowledgement is extended to Miss E. Young for technical assistance.

BIBLIOGRAPHY

Finney, D.J. 1952. Probit Analysis. 2nd Edition. Cambridge Press. pp. 318.

Gaugler, R.R.; Brooks, W.M. 1975. Sublethal effects of infection by *Nosema heliothidis* in the corn earworm, *Heliothis zea*. J. Invertebr. Pathol. 26:57-63.

Grisdale, D. 1970. An improved laboratory method for rearing large numbers of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent. 102:1111-1117.

Martineau, R. 1984. Insects Harmful to Forest Trees. Multiscience Publ. Ltd. Supply and Services Canada pp 47-49.

McMorran, A.R. 1965. A synthetic diet for the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent. 97:58-62.

Nolan, R.A.; Clovis, C.J. 1985. *Nosema fumiferanae* release into the gut of the larvae of the eastern spruce budworm *(Choristoneura fumiferana)*. J. Invertebr. Pathol. 45:112-114.

Thomson, H.M. 1955. *Perezia fumiferanae* N. Sp., a new species of microsporidia from the spruce budworm *Choristoneura fumiferanae* (Clem.). J. Parasitol. 41:1-8.

Thomson, H.M. 1958. The effect of a microsporidian parasite on the development, reproduction and mortality of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). Can. J. Zool. 36:499-511.

Thomson, H.M. 1959. A microsporidian infection in the jack pine budworm, *Choristoneura pinus* free. Can. J. Zool. 37:118-120.

Wilson, G.G. 1976. A method for mass producing spores of the microsporidian *Nosema fumiferanae* in its host, the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent. 108:383-386.

Wilson, G.G. 1977. The effects of feeding microsporidian *(Nosema fumiferanae)* spores to naturally infected spruce budworm *(Choristoneura fumiferana)*. Can. J. Zool. 55:249-250.

Wilson, G.G. 1981. *Nosema fumiferanae*, a natural pathogen of a forest pest: potential for pest management. pp. 595-601 *In* Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Edited by H.D. Burges. Academic Press, New York.

Wilson, G.G. 1983. A dosing technique and the effects of sub-lethal doses of *Nosema fumiferanae* (Microsporida) on its host the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. Parasitol. 87:371-376.

Windels, M.B., Chiang, H.C.; Furgala, B. 1976. Effects of *Nosema pyrausta* on pupa and adult stages of the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. J. Invertebr. Pathol. 27:239-242.

Gouvernement du Canada — Government of Canada

Service canadien des forêts — Canadian Forestry Service

Comparaison des effects de Nosema fumiferanae et de Nosema sp. (Microsporida) sur Choristoneura fumiferana (Clem.) et C. pinus pinus Free.

G.G. Wilson

Rapport d'information FPM-X-77F

Institut pour la répression des ravageurs forestiers

Canada

Comparaison des effets de *Nosema fumiferanae* et de *Nosema* sp. (Microsporida) sur *Choristoneura fumiferana* (Clem.) et *C. pinus* pinus Free.

G.G. Wilson

Rapport d'information FPM-X-77F

Institut pour la répression des ravageurs forestiers
Gouvernement du Canada
Service canadien des forêts
C.P. 490
1219 Queen St. East
Sault Ste. Marie (Ontario)
P6A 5M7

1987

©Ministre des Approvisionnements et Services Canada 1987
Numéro de catalogue Fo46-16/77F
1SBN 0-662-94225-6
ISSN 0827-119

Des exemplaires de cette publication peuvent être obtenus sans frais à l'adresse suivante:

Services d'information
Institut pour la répression des ravageurs forestiers
Service canadien des forêts
Gouvernement du Canada
C.P. 490
1219, Queen St. East
Sault Ste. Marie (Ontario)
Canada, P6A 5M7

Une édition sur microfiche de cette publication peut être achetée de:

Micromedia Ltée
158, rue Pearl
Toronto (Ontario)
M5H 1L3

This publication is also available in English under the title A Comparison of the effects of *Nosema fumiferanae* and a *Nosema* sp. (Microsporida) on *Choristoneura fumiferana* (Clem.) and *Choristoneura pinus pinus* Free.

Wilson, G.G. 1986. Comparaison des effets de *Nosema fumiferanae* et de *Nosema* sp. (Microsporida) sur *Choristoneura fumiferana* (Clem.) et *C. pinus pinus* Free. Service canadien des forêts, Institut pour la répression des ravageurs forestiers. Rapport FPM-X-77F.

Résumé

Sont présentés de façon détaillée les effets de deux microsporidies, *Nosema fumiferanae* et *Nosema* sp., lorsqu'elles sont consommées par des larves au 4e et au 5e stade de *Choristoneura fumiferana* et de *C. pinus pinus*. On a observé que les deux microsporidies causaient une augmentation de la mortalité des insectes ainsi qu'une diminution du poids des chrysalides et de la longévité des adultes. Dans la majorité des cas, *N. fumiferanae* a causé les effets les plus dommageables chez les deux espèces d'insectes.

Abstract

This report details the effects two microsporidia, *Nosema fumiferanae* and a *Nosema* sp. have when fed to 4th- and 5th- instar larvae of *Choristoneura fumiferana* and *Choristoneura pinus pinus*. Both microsporidia caused increased insect mortality and decreases in pupal weight and adult longevity. In the majority of cases N. *fumiferanae* caused the greatest detrimental effects on both species of pest insects.

INTRODUCTION

Des microsporidies ont été isolées chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana)* (Clem.) et chez la tordeuse du pin gris (*C. pinus pinus* Free.) C'est Thomson (1955 et 1959) qui le premier a signalé leur existence, et elles appartiennent maintenant au genre *Nosema* sp. La tordeuse des bourgeons de l'épinette est infectée par *Nosema fumiferanae*; bien que la microsporidie qu'on trouve chez le pin gris soit très similaire, on ne l'a attribuée à aucune espèce en particulier. D'après les épreuves d'infectivité croisée, les deux ravageurs forestiers sont sensibles aux deux microsporidies (Wilson, données non publiées). Des études expérimentales (Wilson, 1981) ont montré que *N. fumiferanae* a des effets nocifs déterminés sur son hôte, la tordeuse des bourgeons de l'épinette. L'augmentation brusque et importante des infestations de la tordeuse du pin gris en Ontario a donné lieu à des études visant à comparer les effets de ces deux microsporidies sur la tordeuse des bourgeons de l'épinette et la tordeuse du pin gris.

L'élevage de la tordeuse du pin gris nourrie avec une diète artificielle a présenté certaines difficultés qui se sont traduites par une mortalité relativement élevée chez les insectes témoins. On n'a pas effectué d'analyse statistique détaillée à cause de ce problème d'alimentation et de la nature générale des comparaisons. Les taux de mortalité ont toutefois été corrigés au moyen de la formule d'Abbott (Finney, 1952).

Les parasites, *Nosema fumiferanae* et *Nosema* sp., de la tordeuse du pin gris

Des microsporidies isolées chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette et chez la tordeuse du pin gris ont été décrites par Thomson (1955 et 1959). La microsporidie parasitant la tordeuse des bourgeons de l'épinette était désignée à l'origine sous le nom de *Perezia fumiferanae*, mais elle est maintenant appelée *Nosema fumiferanae*. La microsporidie isolée chez la tordeuse du pin gris était semblable à *N. fumiferanae*; selon Thomson, les différences n'étaient pas suffisamment importantes pour justifier le classement dans une espèce distincte. Ces deux microsporidies possèdent des spores de 2 x 3-5 µ avec des filaments polaires d'une longueur de 60 à 100 µ. La plupart des tissus sont infectés, les cellules de l'intestin moyen étant le principal site d'infection.

Les hôtes: *Choristoneura fumiferana* et *C. pinus pinus*

La tordeuse des bourgeons de l'épinette est l'insecte forestier défoliateur le plus destructeur indigène en Amérique du Nord. En 1985, 12,3 millions d'hectares de forêts d'épinettes et de sapins, en Ontario, ont subi une défoliation de modérée à grave. Les infestations des peuplements de pin gris par la tordeuse du pin gris ont augmenté sensiblement en Ontario. En 1985, la superficie globale de défoliation de modérée à grave a atteint 3,66 millions d'hectares. Il s'agissait de l'infestation la plus importante jamais enregistrée en Ontario. (*Forestry Newsletter*, été 1986, Centre de foresterie des Grands Lacs.) La tordeuse du pin gris et la tordeuse des bourgeons de l'épinette sont proches parentes et on les a confondues jusqu'en 1953 (Martineau, 1984). À mesure qu'on isolera les hôtes respectifs, il pourra se produire aussi des variations chez une microsporidie qui a déjà été commune.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les spores de microsporidies utilisées dans la présente étude ont été récoltées chez leurs hôtes respectifs, *Nosema fumiferanae* (Nf) chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette et *Nosema* sp. (Cpm) chez la tordeuse du pin gris. Les deux espèces ont été élevées en laboratoire. Les spores ont été purifiées et conservées à 4° C jusqu'à 4 semaines avant d'être utilisées. Des suspensions aqueuses de spores ont été préparées afin d'obtenir des concentrations de 10^6, 10^7 et 10^8 spores par millilitre. Ces suspensions ont été ensemencées à la surface (4,7 cm^2) d'une diète synthétique (McMorran, 1965) versée dans des récipients en plastique (Grisdale, 1970) à raison de 200 µl par récipient, ce qui donne des concentrations de 2 x 10^5, 2 x 10^6 et 2 x 10^7 spores par récipient. La diète destinée aux insectes témoins a été traitée à l'eau distillée. Les insectes utilisés pour toutes les expériences étaient des larves se trouvant à la fin du 4e ou au début du 5e stade, à 12 à 14 jours de leur sortie de l'hibernacle.

Chacune des concentrations a été placée dans 10 récipients, et on a placé 8 larves par récipient. On a laissé les larves consommer librement la diète traitée pendant 7 jours, puis on les a placées sur un milieu frais non traité. Les expériences ont été répétées deux fois. Les analyses ont été effectuées selon un régime photopériodique de 16 h de lumière et 8 h de noirceur, à une température de 23 ± 1° C et avec une humidité relative (HR) de 60 à 80 %. Les récipients ont été placés à l'envers et examinés à tous les deux jours afin de mesurer la mortalité larvaire et s'assurer que les aliments étaient dans un état acceptable. Dès l'apparition des chrysalides, les résultats ont été vérifiés tous les jours et on a déterminé leur sexe ainsi que leur poids dans les 24 heures qui ont suivi. Chacune des chrysalides a été placée dans un flacon en verre et on a enregistré le nombre d'insectes qui parvenaient à l'état adulte et le nombre d'insectes qui mouraient.

RÉSULTATS

Mortalité

Comme on l'a indiqué dans l'introduction, l'élevage de la tordeuse du pin gris nourrie avec une diète artificielle n'a pas été aussi facile que celui de la tordeuse des bourgeons de l'épinette. On trouvera dans le tableau 1 le taux de mortalité des témoins (aucune spore) pour la tordeuse des bourgeons de l'épinette et la tordeuse du pin gris pour les différents traitements (Nf et Cpm). La mortalité totale des témoins dans le cas de la tordeuse des bourgeons de l'épinette était de 21 insectes sur un total de 238 (8,8 %). Par comparaison, 46 insectes sur 162 (28,3 %) sont morts dans le cas de la tordeuse du pin gris. Les effets des microsporidies doivent être évalués à la lumière de ces résultats.

La mortalité chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette et la tordeuse du pin gris était plus importante lorsque les larves étaient exposées à une concentration de 2 x 10^7 spores de Nf ou de Cpm. On a enregistré un taux de mortalité un peu plus important lorsque les deux espèces de tordeuses ont été mises en présence de Nf (tableau 1). La mortalité totale (larves et chrysalides) dans le cas des larves de tordeuse des bourgeons de l'épinette mises en présence de 2 x 10^7 spores de Nf était de 59,8 %, la même concentration de Cpm ayant provoqué un taux de mortalité de 42,5 %. Le taux de mortalité des larves de tordeuse du pin gris traitées était plus élevé que chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette pour toutes les concentrations des deux types de microsporidies. Une concentration de 2 x 10^5 spores chez la tordeuse du pin gris a causé une mortalité du même ordre qu'une concentration de 2 x 10^7 spores chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette. Une

Tableau 1. Effets de diverses concentrations de *Nosema fumiferanae* (Nf) et de microsporidies de la tordeuse du pin gris (Cpm) sur la mortalité de la tordeuse des bourgeons de l'épinette et de la tordeuse du pin gris lorsqu'elles sont exposées au traitement sous forme d'un mélange de larves au 4e et au 5e stade

Concentration: spores/ surface de diète	Pourcentage de mortalité des larves		Pourcentage de mortalité des chrysalides		Pourcentage de mortalité totale[a]			
	Nf	Cpm	Nf	Cpm	Nf		Cpm	
Hôte - Tordeuse des bourgeons de l'épinette								
0	0	5,3	5,2	6,0	5,2	(76)[b]	10,7	(162)
2×10^5	15,2	6,4	16,4	7,9	25,2	(151)	3,2	(154)
2×10^6	19,5	16,4	10,1	16,4	24,3	(157)	19,8	(158)
2×10^7	45,0	34,8	30,7	23,4	59,8	(142)	42,5	(158)
Hôte - Tordeuse du pin gris								
0	16,4	25,2	9,0	9,6	23,8	(67)	31,5	(95)
2×10^5	39,1	39,8	27,3	33,7	41,8	(156)	41,7	(143)
2×10^6	52,7	63,2	45,7	48,9	66,2	(148)	63,6	(128)
2×10^7	80,5	64,1	41,3	44,2	84,9	(149)	70,8	(121)

[a] Le taux de mortalité totale a été ajusté selon la formule d'Abbott.

[b] Les chiffres entre parenthèses corrrespondent au nombre d'individus sur lesquels ont porté les calculs.

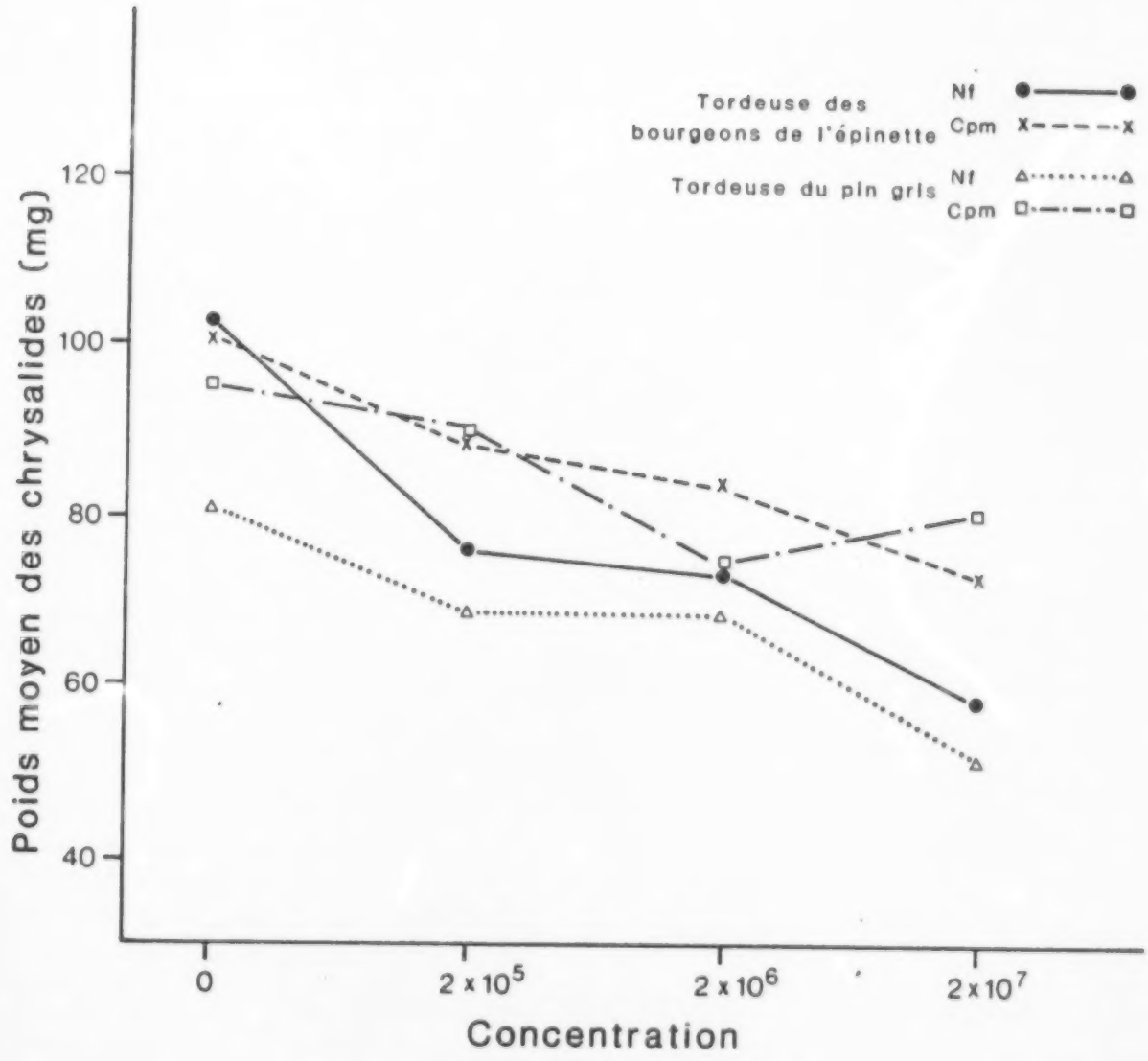

Figure 1. Effets de diverses concentrations de *Nosema fumiferanae* (Nf) et de microsporidies de la tordeuse du pin gris (Cpm) sur le poids des chrysalides femelles de la tordeuse des bourgeons de l'épinette et de la tordeuse du pin gris lorsqu'elles sont exposées au traitement sous forme d'un mélange de larves au 4e et au 5e stade.

concentration de 2 x 10^7 spores de Nf et de Cpm a entraîné des taux de mortalité totale chez la tordeuse du pin gris de 84,9 et 70,8 % respectivement (tableau 1). Dans les deux cas, on a enregistré un taux de mortalité un peu plus élevé chez les deux espèces d'insectes exposés à la microsporidie Nf.

Poids des chrysalides

Les deux espèces de microsporidies ont causé une baisse importante du poids des chrysalides femelles de tordeuses des bourgeons de l'épinette et de tordeuses du pin gris (figure 1). La baisse la plus importante pour les deux espèces d'insectes a été causée par Nf. En général, on n'a noté qu'une légère diminution du poids causée par les concentrations de 5 x 10^5 et 5 x 10^6 spores, par rapport aux témoins, la baisse la plus importante ayant été enregistrée chez les larves exposées à 2 x 10^7 spores. L'exposition des larves de la tordeuse du pin gris à 2 x 10^7 spores de Nf et de Cpm s'est traduite par une diminution du poids des chrysalides femelles de 29 et 15 mg respectivement. Les diminutions ont été de l'ordre de 44 mg (Nf) et de 27 mg (Cpm) dans le cas de la tordeuse des bourgeons de l'épinette exposée à une même concentration. On a également observé des tendances semblables dans le cas du poids des chrysalides mâles lorsque les larves étaient exposées aux microsporidies (figure 2). Comme dans le cas des femelles, l'infection par Nf a provoqué la baisse de poids la plus importante.

Longévité des adultes

La réduction de la longévité des adultes était semblable pour chacun des insectes-hôtes, même dans le cas de l'exposition à la plus faible concentration (2 x 10^5 spores),abrégeant la vie à l'état adulte (tableau 2). La réduction la plus importante s'est produite chez les adultes lorsque des larves ont été exposées à 2 x 10^7 spores par surface de diète. La longévité des tordeuses des bourgeons de l'épinette femelles exposées à 2 x 10^7 spores de Nf et de Cpm, par rapport aux témoins, a été de 3,8 et 4,8 jours respectivement. De la même façon, la baisse chez les tordeuses du pin gris femelles a été de 5,7 et de 5,9 jours. Il est évident que les deux microsporidies ont causé l'effet le plus marqué sur la longévité des tordeuses du pin gris femelles. La diminution de la longévité chez les mâles était semblable chez les deux hôtes, Nf et Cpm provoquant une mort plus hâtive de 2 à 3 jours et de 1,5 jour respectivement, par comparaison avec la longévité chez les témoins.

DISCUSSION

D'après ces études, il est évident que les deux microsporidies, *Nosema fumiferanae* et *Nosema* sp., ont des effets nocifs graves sur leurs hôtes. On enregistre une augmentation de la mortalité et une diminution du poids des chrysalides et de la longévité des adultes. Les effets dommageables de *N. fumiferanae* sur la tordeuse des bourgeons de l'épinette ont été bien documentés (Thomson, 1958; Wilson, 1977 et 1983). Wilson (1976) a effectué des essais afin de déterminer la meilleure concentration pour la production de masse de spores de Nf et a indiqué qu'une concentration de spores de 2 x 10^7 appliquée à la surface de la diète consommée par des larves au 4e stade de la tordeuse des bourgeons de l'épinette s'est traduite par un taux de mortalité des larves de 38 %. Des résultats similaires ont été obtenus dans la présente étude avec une concentration de 2 x 10^7 spores de Nf qui a provoqué un taux de mortalité de 45 % chez les larves de la tordeuse des bourgeons de l'épinette.

La longévité et le poids des chrysalides sont des éléments importants au niveau de la capacité de reproduction. Une baisse au niveau de ces deux éléments amène vraisemblablement un

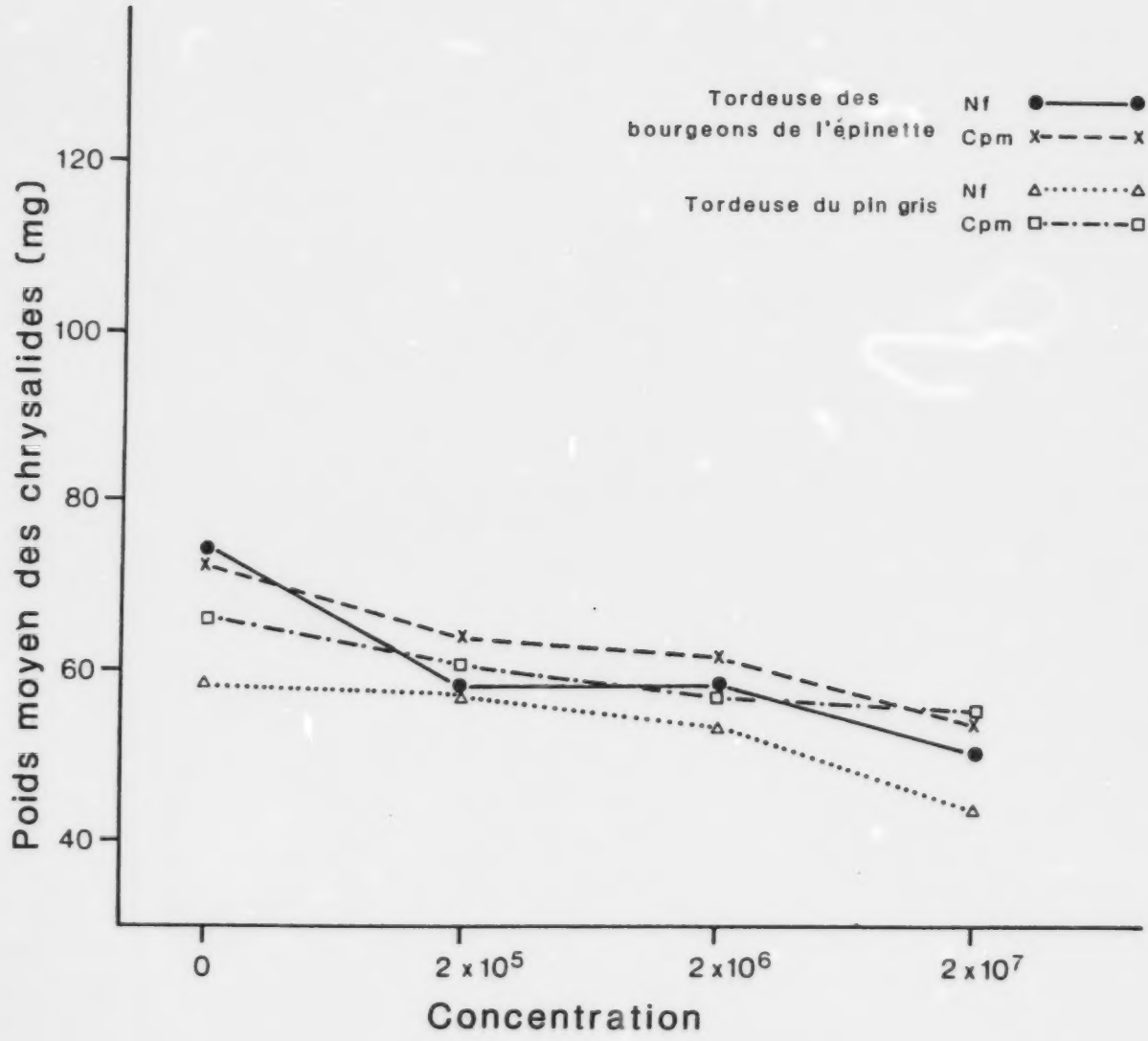

Figure 2. Effets de diverses concentrations de *Nosema fumiferanae* (Nf) et de microsporidies de la tordeuse du pin gris (Cpm) sur le poids des chrysalides mâles de la tordeuse des bourgeons de l'épinette et de la tordeuse du pin gris lorsqu'elles sont exposées au traitement sous forme d'un mélange de larves au 4e et au 5e stade.

Tableau 2. Effets de diverses concentrations de *Nosema fumiferanae* (Nf) et de microsporidies de la tordeuse du pin gris (Cpm) sur la longévité de la tordeuse des bourgeons de l'épinette et de la tordeuse du pin gris adultes lorsqu'elles sont exposées au traitement sous forme d'un mélange de larves au 4e et au 5e stade

Concentration: spores/ surface de diète	Tordeuse des bourgeons de l'épinette x jours comme adultes				Tordeuse du pin gris x jours comme adultes			
	Nf		Cpm		Nf		Cpm	
0	7,9	11,9	8,1	14,1	8,5	10,8	9,2	12,5
2×10^5	6,8	9,1	7,4	11,1	7,3	8,6	6,9	10,8
2×10^6	6,8	8,8	8,0	10,2	7,1	7,3	6,9	8,6
2×10^7	5,4	8,1	6,4	9,3	5,1	5,1	7,6	6,6

épuisement des réserves nutritionnelles et une baisse de la capacité d'assimilation efficace des aliments (Nolan et Clovis, 1985), ce qui se traduit par une capacité de reproduction plus faible. Une diminution de la longévité abrège également la période de reproduction des adultes et de ponte des oeufs. Ces effets des microsporidies sur le poids des chrysalides et la longévité des adultes ont été signalés chez d'autres insectes. Gaugler et Brooks (1975) ont fait consommer à des larves d'*Heliothis zea* âgées de 3 jours une diète contenant 1,3 x 10^6 spores de *Nosema heliothidis*. La longévité des larves adultes a été abrégée d'environ 4 jours. De la même façon, la longévité des papillons mâles et femelles de *Ostrina nubilalis* infectés naturellement par *Nosema pyrausta*, avec une concentration supérieure à 10^6 spores, a été raccourcie en moyenne de 2,0 et 2,4 jours respectivement, par rapport aux papillons non contaminés (Windels et collab., 1976). Thomson (1958) a étudié une population de tordeuses des bourgeons de l'épinette naturellement contaminées par *N. fumiferanae* et a enregistré des baisses de la longévité des adultes mâles et femelles infectés, de 2,4 et 7,1 jours respectivement, ainsi qu'une réduction du poids des chrysalides femelles de 23 mg.

C'est la première fois que l'effet des microsporidies a été vérifié chez la tordeuse du pin gris. La présente étude montre que, pour cet insecte exposé à des microsporidies, on peut s'attendre à obtenir des résultats similaires à ceux enregistrés dans le cas de la tordeuse des bourgeons de l'épinette. En fait, les données montrent que les effets sont peut-être plus marqués chez la tordeuse du pin gris. Il est également intéressant de noter que *N. fumiferanae* semble causer des effets dommageables plus graves à la fois chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette et chez la tordeuse du pin gris que les microsporidies isolées chez la tordeuse du pin gris. Toutefois, il ne faut pas nécessairement conclure à l'existence d'une autre espèce de microsporidie. En fait, les microsporidies de la tordeuse du pin gris sont probablement une souche de *N. fumiferanae*. Toute étude complète de la dynamique des populations de tordeuses du pin gris devra tenir compte du rôle des microsporidies dans la lutte contre ce ravageur forestier.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mlle E. Young pour son aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

Finney, D.J. 1952. Probit Analysis. 2nd Edition. Cambridge Press. pp. 318.

Gaugler, R.R.; Brooks, W.M. 1975. Sublethal effects of infection by *Nosema heliothidis* in the corn earworm, *Heliothis zea*. J. Invertebr. Pathol. 26:57-63.

Grisdale, D. 1970. An improved Laboratory method for rearing large numbers of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Entomol. 102:1111-1117.

Martineau, R. 1984. Insects Harmful to Forest Trees. Multiscience Publ. Ltd. Supply and Services Canada. pp. 47-49.

McMorran, A.R. 1965. A synthetic diet for the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.), (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Entomol. 97:58-62.

Nolan, R.A.; Clovis, C.J. 1985. *Nosema fumiferanae* release into the gut of the larvae of the eastern spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*). J. Invertebr. Pathol. 45:112-114.

Thomson, H.M. 1955. *Perezia fumiferanae* N. Sp., a new species of microsporidia from the spruce budworm *Choristoneura fumiferanae* (Clem.). J. Parasitol. 41:1-8.

Thomson, H.M. 1958. The effect of a microsporidian parasite on the development, reproduction and mortality of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). Can. J. Zool. 36:499-511.

Thomson, H.M. 1959. A microsporidian infection in the jack pine budworm, *Choristoneura pinus pinus* Free. Can. J. Zool. 37:118-120.

Wilson, G.G. 1976. A method for mass producing spores of the microsporidian *Nosema fumiferanae* in its host, the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Entomol. 108:383-386.

Wilson, G.G. 1977. The effects of feeding microsporidian (*Nosema fumiferanae*) spores to naturally infected spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*). Can. J. Zool. 55:249-250.

Wilson, G.G. 1981. *Nosema fumiferanae*, a natural pathogen of a forest pest: potential for pest management. Pages 595-601 *in* Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Edited by H.D. Burges. Academic Press, New York.

Wilson, G.G. 1983. A dosing technique and the effects of sub-lethal doses of *Nosema fumiferanae* (Microsporida) on its host the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. Parasitol. 87:371-376.

Windels, M.B.; Chiang, H.C.; Furgala, B. 1976. Effects of *Nosema pyrausta* on pupa and adult stages of the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. J. Invertebr. Pathol. 27:239-242.